Ueber

Neue Tuberkulinpräparate.

Von

Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch
in Berlin.

Sonderabdruck aus der „Deutschen Medicinischen Wochenschrift“ 1897, No. 14.
Redaction Geh. Med.-Rath Prof. Dr. **A. Eulenburg** und Dr. **Jul. Schwalbe.**

Leipzig.
Verlag von Georg Thieme.
1897.

22501896419

Ueber

Neue Tuberkulinpräparate.

Von

Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch
in Berlin.

Sonderabdruck aus der „Deutschen Medicinischen Wochenschrift“ 1897, No. 14.
Redaction: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. **A. Eulenburg** und Dr. **Jul. Schwalbe.**

Leipzig.
Verlag von Georg Thieme.
1897.

WELLCOME
LIBRARY
pam
WF 200
1 8 97
K 76 u

Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.

Ueber neue Tuberkulinpräparate.

Seit meinen Veröffentlichungen über das Tuberkulin habe ich die Untersuchungen über die Verwendung von Culturen der Tuberkelbacillen zur Behandlung der Tuberkulose ununterbrochen fortgesetzt und glaube damit soweit zu einem Abschluss gelangt zu sein, dass ich die Resultate dieser Untersuchungen veröffentlichen kann.

Das fertige Product dieser Jahre hindurch fortgeführten Arbeiten wird einfach und in mancher Beziehung geradezu selbstverständlich erscheinen. Aber jeder, der über Tuberkulose gearbeitet hat, weiss, wie ausserordentlich mühsam und zeitraubend derartige Untersuchungen sind und wie sie Ausdauer und Geduld oft auf die härteste Probe stellen. Um so mehr möchte ich es deswegen auch an dieser Stelle dankbar anerkennen, dass Herr Dr. M. Beck mir bei meinen Arbeiten unermüdlich und getreulich assistirt hat.

Die Anwendung der Bacterien und ihrer Producte zu Heil- und Schutzzwecken kommt immer auf eine Art Immunisirung hinaus, und ich halte es daher für zweckmässig, meine Stellung zu den dabei in Betracht kommenden Fragen kurz zu präcisiren, um später nicht missverstanden zu werden.

Ursprünglich dachte man sich die Immunität gegen Infectionskrankheiten als etwas einfaches, untheilbares. Allmählich ist man aber mehr und mehr zu der Einsicht gelangt, dass die Immunität zwar einfach sein kann, aber es nicht sein muss, dass sie auch aus zwei Componenten, vielleicht sogar aus mehreren zusammengesetzt sein kann. Es wird sich dies am besten an einigen Beispielen auseinandersetzen lassen.

Wie Behring und Kitasato gezeigt haben, können Thiere gegen Tetanus immunisirt werden. Man benutzt dazu die filtrirten Culturflüssigkeiten, d. h. die in Wasser löslichen Producte der Tetanusbacillen, unter welchen sich das specifische Tetanusgift

befindet. Gegen dieses Gift, und zwar gegen sehr grosse Dosen desselben sind die immunisirten Thiere geschützt, aber doch nur auf eine gewisse Zeit. Auf die Tetanusbacterien selbst hat die Immunisirung keinen Einfluss, dieselben vegetiren in dem immunisirten Körper, soweit ihnen bei ihrem streng anaërobiotischen Wachsthum die Gelegenheit dazu geboten ist, unbehindert weiter. Wir haben es hier also mit einer einfachen und reinen Gift-Immunität zu thun, und es kann schliesslich, wenn diese künstliche Immunität nach einigen Wochen wieder geschwunden ist, dahin kommen, dass in dem immunisirten Thierkörper das von den Tetanusbacillen immer weiter producirte Tetanusgift nicht mehr unschädlich gemacht wird und dass das Thier alsdann noch an Tetanus zugrunde geht, ohne dass es von neuem mit Tetanusbacillen inficirt zu werden braucht.

Das entgegengesetzte Verhalten finden wir bei Cholera und Typhus. Für diese Krankheiten haben die Untersuchungen Pfeiffer's den Nachweis geliefert, dass die mit frischen Agarculturen immunisirten Thiere zwar gegen die lebenden Bacterien, aber nicht gegen das von letzteren producirte Gift geschützt sind. Denn die lebenden Cholera- und Typhusbacterien gehen in dem immunisirten Thierkörper in überraschend kurzer Zeit zugrunde, während es noch nicht gelungen ist, Thiere über eine gewisse Giftdosis hinaus zu immunisiren; in diesem Falle ist die Immunität eine rein bacterielle, d. h. eine ausschliesslich gegen die Bacterienkörper gerichtete.

Das Ideal einer Immunisirung wird immer sein, den thierischen, resp. menschlichen Körper nicht nur gegen eine einzige der Schädlichkeiten, welche die pathogenen Mikroorganismen mit sich bringen, zu schützen, sondern gegen alle. Diese Verhältnisse spielen auch bei der Tuberkulose eine grosse Rolle.

Zunächst könnte es allerdings so scheinen, als ob für Tuberkulose überhaupt keine Immunität besteht, da sie beim Menschen Jahre hindurch dauern kann, ohne dass die Empfänglichkeit dafür abnimmt. Selbst in den Fällen, wo eine Heilung eintritt, ist der Mensch dadurch nicht immun gegen eine neue Invasion der Tuberkelbacillen geworden; er ist dann im Gegentheil, wie die Erfahrung lehrt, eher noch empfänglicher für eine frische tuberkulöse Infection. Und doch existiren Andeutungen, welche dafür sprechen, dass auch die Tuberkulose unter bestimmten Bedingungen eine Art Immunisirung erkennen lässt. Ich finde dieselben in den Beobachtungen, welche man bei der Miliartuberkulose des Menschen und bei der experimentellen Tuberkulose des Meerschweinchens machen kann. Es tritt hierbei in der Regel ein Stadium ein, in welchem die Tuberkelbacillen, welche anfangs in grosser Menge vorhanden waren, wieder verschwinden, so dass man sehr sorgfältig suchen muss, um überhaupt noch einige Reste derselben zu finden. Es ist dies sehr auffallend, da wir noch später sehen werden, dass die Tuberkelbacillen, wenn sie experimentell dem Körper einverleibt werden, ausserordentlich langsam resorbirt werden. Es scheint

sich in jenen Fällen also in der That um einen Immunisirungsvorgang, und zwar um einen rein bacteriellen zu handeln. Leider kommt er für den betreffenden Organismus zu spät, als dass er für denselben noch von Nutzen sein könnte. Aber diese Beobachtungen sind für mich von Anfang an die Veranlassung gewesen, unablässig nach einem Verfahren zu suchen, welches gestattet, auch in einem frühen Stadium der Tuberkulose, wo es noch etwas nützen kann, diesen Zustand von Immunität herbeizuführen. Die beiden erwähnten Vorgänge haben eins gemeinschaftlich, nämlich dass der Körper in kurzer Zeit mit Tuberkelbacillen überschwemmt wird. Gerade dieser Umstand scheint mir auch die Erklärung dafür abzugeben, dass es bei der Tuberkulose unter gewöhnlichen Verhältnissen zu einer ausgesprochenen Immunität nicht kommt. Für gewöhnlich verhält es sich so, dass die Tuberkelbacillen in den Geweben des menschlichen Körpers nur in geringer Zahl und sehr langsam wachsen; sie befinden sich meistens von nekrotischem Gewebe umgeben und erst lange Zeit, nachdem sie selbst abgestorben sind und wahrscheinlich tiefere chemische Veränderungen erfahren haben, kommen sie zur Resorption. Wo die Tuberkelbacillen in grösseren Mengen wuchern, z. B. in Cavernen und an der Oberfläche von Schleimhäuten, da werden sie unverändert abgestossen und überhaupt nicht resorbirt. So kann denn auch unter solchen Bedingungen eine Immunisirung nicht zustande kommen. Dieselbe tritt nur dann ein, wenn zahlreiche Tuberkelbacillen, wie bei Miliartuberkulose und Meerschweinchentuberkulose, sich schnell im ganzen Körper verbreiten und mit den lebenden Geweben in Wechselwirkung treten.

Um eine künstliche Immunität zu erhalten, mussten Verhältnisse angestrebt werden, welche den eben geschilderten möglichst ähnlich sind. Dem stellen sich aber geradezu unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen. Alle Versuche, die unveränderten lebenden oder selbst abgetödteten Tuberkelbacillen in einigermaassen grösserer Menge vom subcutanen Gewebe, von der Bauchhöhle oder von der Blutbahn aus zur Resorption zu bringen, sind mir missglückt, und ebenso ist es vielen anderen Forschern gegangen. Subcutan injicirt machen die todten Tuberkelbacillen regelmässig Eiterungen und sie können in den entstandenen Abscessen noch Monate lang in grosser Zahl und gut färbbar nachgewiesen werden. Werden sie in die Bauchhöhle von Versuchsthieren gebracht, dann werden sie schon besser resorbirt, und es ist mir gelungen, auf diese Weise deutliche Immunität zu erzielen, aber daneben kommt es regelmässig zu umschriebenen Entzündungen mit ihren Folgen, als Verwachsungen der Bauchorgane unter einander, Knickung und Verschluss des Darms u. s. w., welchen ein grosser Procentsatz der Thiere zum Opfer fällt. Die in die Blutbahn der Versuchsthiere, z. B. Kaninchen, injicirten abgetödteten Tuberkelbacillen rufen in den Lungen ganz dieselben Tuberkelknötchen hervor, wie es die lebenden thun, und in den Knötchen kann man noch nach

sehr langer Zeit die unveränderten Tuberkelbacillen finden; die Resorption geht also auch hier nicht in der erwünschten Weise vor sich.

Als es sich somit herausstellte, dass die Tuberkelbacillen in unverändertem Zustande für Immunisirungszwecke nicht zu gebrauchen sind, versuchte ich, dieselben durch chemische Eingriffe resorbirbar zu machen. Die einzigen Verfahren, welche in dieser Beziehung etwas leisteten, bestanden in der Behandlung der Tuberkelbacillen mit verdünnten Mineralsäuren oder mit starken Alkalien bei Siedehitze. Damit gelingt es in der That, die Tuberkelbacillen so zu verändern, dass sie in toto vom subcutanen Gewebe aus in grösseren Mengen, wenn auch langsam, aber doch vollständig resorbirt werden. Irgend welche Anzeichen von Immunität wurden hierbei indessen nicht erzielt, und es ist anzunehmen, dass dieser chemische Eingriff eine zu tiefe Veränderung der Bacillensubstanz bewirkt und ihre immunisirenden Eigenschaften zerstört.

Da also auch auf diesem Wege nichts zu erreichen war, so ging ich dazu über, unter Verzicht auf die Gesammtmasse der Tuberkelbacillen resorbirbare Bestandtheile aus denselben zu extrahiren und dieselben zu Immunisirungszwecken zu benutzen.

Zuerst versuchte ich es mit Glycerinextraction, welche zur Auffindung des Tuberkulins führte. Das Tuberkulin hat die höchst werthvolle Eigenschaft, dass es, in sehr geringer Menge subcutan beigebracht, bei tuberkulös erkrankten Menschen und Thieren eine charakteristische Reaction auslöst. Diese Eigenschaft lässt sich zunächst verwerthen, um die Tuberkulose in den frühesten Stadien zu erkennen, also zu einer Zeit, wo die physikalische Diagnose vollkommen im Stich lässt und wo doch gerade die meiste Aussicht auf therapeutische Erfolge vorhanden ist. Die Anwendung des Tuberkulins als diagnostisches Hülfsmittel, worauf ich in meiner ersten Veröffentlichung über das Tuberkulin den grössten Nachdruck gelegt habe, hat sich denn auch im Laufe der Zeit mehr und mehr bewährt. Es wird heutzutage in den meisten Culturstaaten zur frühzeitigen Diagnose der Rindertuberkulose (Perlsucht) verwendet. Die planmässige Bekämpfung dieser weit verbreiteten Krankheit ist darauf begründet und hat bereits zu sehr guten Erfolgen geführt. Bei den vielen Tausenden von Tuberkulininjectionen, welche zu diesem Zwecke an Rindern gemacht sind, hat sich die Befürchtung, dass infolge der Reaction die Tuberkelbacillen mobil gemacht und nach gesunden Theilen des Körpers verschleppt werden könnten, als irrig erwiesen. Es stimmt das vollkommen überein mit meinen eigenen Erfahrungen an mehr als 1000 Fällen von Anwendung des Tuberkulins zur Frühdiagnose der Tuberkulose beim Menschen, über welche demnächst Herr Stabsarzt Dr. Nietner ausführlich berichten wird. Auch in diesen Fällen hat sich niemals der geringste Anhalt für die Mobilmachung und Verschleppung von Tuberkelbacillen erkennen lassen. Auf Grund solcher Erfahrungen sollte man doch endlich das thörichte

Vorurtheil vom mobilgemachten Tuberkelbacillus fallen lassen und sollte die diagnostische Verwendung des Tuberkulins auch zur Bekämpfung der menschlichen Tuberkulose nach Analogie der Perlsuchtbekämpfung verwerthen. Ich kann hier nur das wiederholen, was ich bei früherer Gelegenheit gesagt habe, dass auch bei der Tuberkulose die Prophylaxis unendlich wichtiger und vortheilhafter ist, als alle Therapie.

Die weitere Ausnutzung des Tuberkulins besteht in der Anwendung desselben zur Behandlung der Tuberkulose. Da nach jeder Tuberkulinreaction eine unverkennbare Besserung des tuberkulösen Processes eintritt, so lag es sehr nahe, die Reactionen so lange, als noch eine Besserung damit zu erzielen war, fortzusetzen. Bis ins Unbegrenzte lässt sich dies nun aber nicht durchführen; allmählich erlischt die Reactionsfähigkeit und damit natürlich auch die Wirkung des Tuberkulins. Es kommt schliesslich zu einer vollkommenen Immunisirung gegen das Tuberkulin, welche einige Monate anhalten kann. Auf die Tuberkelbacillen selbst hat die Immunisirung keinen Einfluss, es handelt sich also um eine reine Toxinimmunität, aber nicht um eine bacterielle. Leider ist sehr oft die Reactionsfähigkeit gegen das Tuberkulin bereits erloschen, ehe eine vollkommene Heilung erfolgt ist. Es treten dann Recidive ein, welche, sobald die Reactionsfähigkeit sich wieder eingestellt hat, von neuem mit Tuberkulinreactionen zu behandeln sind. Auf diese Weise kann man mit der nöthigen Geschicklichkeit und Ausdauer, wenn auch nicht in allen, so doch in sehr vielen Fällen von uncomplicirter Tuberkulose Heilung oder doch mindestens erhebliche Besserung erreichen. Ich würde deshalb, wenn es mir nicht inzwischen gelungen wäre, wirklich bacteriell-immunisirende Präparate aus den Culturen der Tuberkelbacillen darzustellen, auch jetzt noch das Tuberkulin für das beste unter den jetzt zu Gebote stehenden Mitteln gegen Tuberkulose halten.

Aber selbstverständlich blieb auch nach Auffindung des Tuberkulins mein Wunsch immer auf die Gewinnung solcher bacteriell-immunisirender Substanzen gerichtet. Unter den vielen später wieder fallen gelassenen dahinzielenden Versuchen möchte ich hier einen erwähnen, der mich länger als ein Jahr beschäftigt hat, da er in mehrfacher Beziehung sehr lehrreich ist. Es handelt sich um ein Präparat, welches durch Extraction der Tuberkelbacillen mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge gewonnen wurde. Die Tuberkelbacillen wurden in der Lauge gut vertheilt, drei Tage lang bei Zimmertemperatur unter öfterem Umrühren stehen gelassen, die über den Culturmassen stehende Flüssigkeit durch Fliesspapier filtrirt und schliesslich neutralisirt. Die so erhaltene klare, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit war nicht ganz frei von Tuberkelbacillen. Sie enthielt so viel davon, dass in einem gewöhnlichen Deckglaspräparat 5—10 Bacillen im Gesichtsfeld zu sehen waren. Dieselben lagen aber stets einzeln, nie in Haufen. Selbstverständlich waren dies ganz sicher abgetödtete Tuberkelbacillen, da ich durch Vorversuche

festgestellt hatte, dass sie in $^1/_{10}$ Normalnatronlauge schon nach 12—15 Stunden abgestorben sind. Das Präparat wurde, weil es ein alkalisches Extract war, der Kürze wegen als TA bezeichnet. Mit diesem TA angestellte Versuche ergaben nun, dass dasselbe in sehr kleinen Dosen ganz ähnliche Reactionen bewirkte, wie das Tuberkulin, nur waren die Reactionen von etwas längerer Dauer; auch blieb die Reactionsfähigkeit länger erhalten. Die Hauptsache aber war, dass die damit erzielten Erfolge sich als beständiger erwiesen, als die mit Tuberkulin erhaltenen. Es kam weniger oft und später zu Recidiven. Es stellte sich jedoch bei diesem Präparat ein Uebelstand ein, der mich schliesslich dazu zwang, es wieder aufzugeben. Bei einer gewissen, allerdings ziemlich hohen Dosis bildeten sich an den Injectionsstellen Abscesse, die vollkommen steril waren und nur durch den Gehalt des Präparats an todten Tuberkelbacillen bedingt sein konnten. Die Flüssigkeit wurde deswegen in der Folge durch Thonzellen filtrirt und so die Tuberkelbacillen vollständig daraus entfernt. Auf der Oberfläche der Thonzelle blieben aber bei der Filtration nicht nur die Bacillen, sondern auch eine gewisse Menge colloider Substanz zurück, und es stellte sich sehr bald heraus, dass das filtrirte Präparat nun keine Abscesse mehr machte, aber in seiner Wirkung dem gewöhnlichen Tuberkulin auch nicht mehr überlegen war. Da das Präparat ausserdem sich nicht lange hielt und immer frisch hergestellt werden musste, so habe ich das ausserordentlich haltbare Glycerinextracttuberkulin ihm schliesslich vorgezogen.

Dass bei einer gewissen Dosis des TA regelmässig Abscesse eintraten, halte ich für ein sehr wichtiges Factum. Dasselbe lehrt uns nämlich, dass eine Angewöhnung, eine Immunisirung gegen die in ihrer Form erhaltenen Tuberkelbacillen bei subcutaner Application nicht zu erwarten ist. Von dem Präparat wurden anfangs die kleinsten Dosen, welche nur vereinzelte Tuberkelbacillen enthalten konnten und noch ganz gut resorbirt wurden, injicirt. Dann wurde ganz allmählich gestiegen, bis man nach 20—30 Injectionen an die abscessmachenden grösseren Dosen kam. Wenn eine Angewöhnung an grössere Mengen von Tuberkelbacillen möglich wäre, dann hätte sie hier eintreten müssen: aber dies geschah nicht; offenbar weil das subcutane Gewebe imstande ist, eine geringe Zahl von todten Tuberkelbacillen noch ganz gut zu bewältigen, aber über eine gewisse Menge derselben hinaus dazu absolut unfähig ist. Wollte man auf diesem Wege dem Körper eine grössere Menge von Tuberkelbacillen einverleiben, dann müsste man eine Menge von Injectionen auf entsprechend viele Hautstellen vertheilen, was sich aus praktischen Gründen von selbst verbietet.

Diese mit dem TA gemachten Erfahrungen brachten mich auf die Idee, die Tuberkelbacillen, wenn sie in unzerstörtem Zustande unter keinen Umständen resorbirt werden, womöglich mechanisch soweit zu zertrümmern, dass sie für die resorbirenden

Elemente des Körpers besser angreifbar gemacht wurden. In dieser Idee wurde ich überdies noch besonders bestärkt durch Beobachtungen, welche ich in Bezug auf das chemische Verhalten der Tuberkelbacillen gemacht hatte.[1]) Bei den früher erwähnten Versuchen, die Tuberkelbacillen durch Mineralsäuren und starke Alkalien in einen gelösten Zustand überzuführen, hatte ich nämlich gefunden, dass die Tuberkelbacillen zwei eigenthümliche chemische Körper enthalten, welche beide zu den ungesättigten Fettsäuren gehören. Die eine Fettsäure ist in verdünntem Alkohol löslich und wird durch Natronlauge leicht verseift; die andere löst sich nur in siedendem absoluten Alkohol oder Aether und ist sehr schwer verseifbar. Beide nehmen die sogenannte Tuberkelbacillenfärbung an, d. h. sie werden durch Carbolfuchsin intensiv roth gefärbt und behalten diese Färbung auch nach der Behandlung mit verdünnter Salpetersäure und mit Alkohol. Da bei dieser Behandlung die erste der beiden Fettsäuren sich in Alkohol löst und aus den mikroskopischen Untersuchungsobjecten ausgezogen wird, so bleibt bei dem Färbungsverfahren, wenn es auf die Tuberkelbacillen angewendet wird, nur die zweite in kaltem Alkohol unlösliche Fettsäure in demselben zurück; diese fixirt den Farbstoff und ist somit der Träger der eigentlichen Tuberkelbacillenfärbung. Durch heisse Natronlauge kann man die Fettsäure langsam aus den Tuberkelbacillen austreiben und mit Hülfe des Mikroskops den Vorgang der Abscheidung leicht verfolgen, wie die Fettsäure in Form von färbbaren Tröpfchen aus dem Bacillus austritt und zu grösseren Tropfen zusammenfliesst, während die Bacillen anfangs noch ihre Form bewahren, aber nicht mehr die specifische Färbung der Tuberkelbacillen, sondern nur noch die der übrigen Bacterien annehmen. Diese Fettsäuren bilden, wie das mikroskopische Bild des gefärbten Bacillus lehrt, eine zusammenhängende Schicht in dem Körper desselben, sie schützen ihn gegen Eingriffe von aussen und bewirken, dass seine Resorption so schwer vor sich geht. Es kam somit darauf an, diese Schutzhülle zu zerstören, wenn die Tuberkelbacillen resorbirbar gemacht werden sollten.

Die ersten darauf hinzielenden Versuche scheiterten sämmtlich. Alles Zerreiben und Zerquetschen mit und ohne Zusätze von harten, pulverförmigen Massen liess die Tuberkelbacillen unverändert. Erst als ich gut getrocknete Culturen nahm und sie ohne irgend welchen Zusatz im Achatmörser mit einem Achatpistill lange Zeit hindurch verarbeitete, liess sich erkennen, dass die färbbaren Tuberkelbacillen an Zahl abnahmen und dass schliesslich nur noch wenige Tuberkelbacillen übrig geblieben waren. Um auch diese sicher zu entfernen, vertheilte ich die so gewonnene Substanz in destillirtem Wasser und centrifugirte sie. Mit Hülfe einer sehr kräftigen

[1]) Diese und andere chemische Untersuchungen, welche ich in Gemeinschaft mit Herrn Prof. Proskauer angestellt habe, sollen demnächst veröffentlicht werden.

Centrifuge (4000 Umdrehungen in der Minute, eine halbe bis dreiviertel Stunden lang) liess sich die Flüssigkeit in eine obere weisslich opalescirende, aber vollkommen klar durchsichtige Schicht, welche keine Tuberkelbacillen mehr enthielt, und einen fest anhaftenden schlammigen Bodensatz trennen. Letzterer wurde wieder getrocknet, dann im Mörser verarbeitet und centrifugirt wie vorher; er gab dann gleichfalls eine klare obere Schicht und einen festen Bodensatz. Diese Manipulation konnte fortgesetzt werden, bis schliesslich fast nichts übrig blieb, als die schon ursprünglich in der Cultur befindlichen und später zufällig hineingerathenen Verunreinigungen von Baumwollfasern, Staub u. s. w. Es liess sich also auf diese Weise mit Leichtigkeit die gesammte Masse der Tuberkelbacillencultur in eine Reihe von vollständig klaren Flüssigkeiten verwandeln.

Dieser Versuch, den jeder ohne Schwierigkeit wiederholen kann war der Ausgangspunkt für meine weiteren Arbeiten.

Zunächst überzeugte ich mich durch Versuche an Thieren und später an Menschen, dass die so gewonnenen Präparate sämmtlich vollkommen resorbirbar waren und niemals Abscesse machten, vorausgesetzt, dass sie gut centrifugirt waren und keine färbbaren Tuberkelbacillen mehr enthielten. Es stellte sich dann ferner alsbald heraus, dass nur die erste Flüssigkeit sich von den folgenden wesentlich unterscheidet, die zweite und die darauf folgenden unter sich aber nicht unterschieden sind. Ich habe deswegen als Tuberkulin O (abgekürzt T O) die oberste Schicht nach dem ersten Centrifugiren und als T R den nach dem ersten Centrifugiren gebliebenen und weiter verarbeiteten Rest bezeichnet.

Schon bei der mikroskopischen Untersuchung des verarbeiteten Ausgangsmaterials zeigt es sich, dass die Körper der Tuberkelbacillen nicht in eine gleichmässige Substanz verwandelt sind. Man sieht, wenn mit Karbolfuchsin vor- und mit Methylenblau nachgefärbt ist, überhaupt keine roth gefärbten Massen mehr, auch die Tröpfchen der Fettsäure fehlen, dagegen befinden sich im Gesichtsfelde blass gefärbte wolkige Gebilde, die von dunkelblauen Tröpfchen umsäumt sind; letztere häufen sich namentlich nach dem Rande zu. Nach der Trennung in die Flüssigkeiten TO und TR findet man die violetten wolkenartigen Gebilde in TR, die blaugefärbten Massen in TO. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass ein Zusatz von 50% Glycerin TO nicht verändert, in TR dagegen einen flockigen weissen Niederschlag hervorruft, über welchem eine ganz wasserklare Flüssigkeit zurückbleibt. Ueber noch weitere interessante chemische Unterschiede werde ich bei anderer Gelegenheit berichten.

Das Verhalten gegenüber dem Glycerin liess schon erkennen, dass TR hauptsächlich diejenigen Bestandtheile der Tuberkelbacillen enthält, welche in Glycerin unlöslich sind, also bei der Glycerinextraction zurückbleiben, während das TO die im Glycerin löslichen Theile umfasst. Mit dieser Annahme stimmt denn auch die Prü-

fung der beiden Präparate an Thieren und am Menschen überein. TO steht in seinen Eigenschaften dem gewöhnlichen Tuberkulin sehr nahe, es entspricht fast ganz der Wirkung des früher geschilderten TA (alkalisches Extract), nur dass bei dem TO keine Abscessbildungen zu befürchten sind. Aber es hat auch nur sehr geringe immunisirende Eigenschaften.

Das TR dagegen wirkt ganz entschieden immunisirend. Es macht zwar auch bei Tuberkulösen Reactionen, wenn zu grosse Dosen angewendet werden, aber seine Wirkung ist ganz unabhängig von diesen Reactionen. Während beim Gebrauch von gewöhnlichem Tuberkulin, ebenso wie von TA und TO Reactionen hervorgerufen werden müssen, um Heileffecte zu erzielen, suche ich bei der Anwendung des TR die Reactionen möglichst zu vermeiden und bemühe mich nur, den Kranken durch allmähliche Steigerung der Dosis, zwar so schnell als möglich, aber auch mit möglichster Schonung für grössere Dosen des Mittels unempfänglich zu machen, d. h. ihn gegen das TR und damit, wie ich annehmen zu können glaube, auch gegen die Tuberkelbacillen selbst zu immunisiren. Dass das TR alles umfasst, was an immunisirenden Factoren in den Culturen der Tuberkelbacillen enthalten ist, geht auch schon daraus hervor, dass ein Mensch, welcher gegen TR immunisirt ist, auch wenn bei der Immunisirung Reactionen fast ganz vermieden sind, nicht mehr auf grosse Dosen des gewöhnlichen Tuberkulins und des TO reagirt; er ist also gegen alle Bestandtheile der Tuberkelbacillen immunisirt. Ich habe gerade dieses Verhalten des TR, weil es mir sehr wichtig zu sein schien, in einer so grossen Anzahl von Fällen constatirt, dass über die Richtigkeit der Beobachtung kein Zweifel obwalten kann.

Wenn das TR seine volle Wirkung entfalten soll, dann sind allerdings bei seiner Herstellung noch einige unerlässliche Bedingungen zu erfüllen. Zunächst eignet sich nicht jede Tuberkelcultur zur Präparation eines wirksamen TR. Ich habe mich in neuerer Zeit durch Versuche, die ich gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Vagedes angestellt habe und welche später veröffentlicht werden sollen, davon überzeugt, dass die Tuberkelbacillen gar nicht so gleichmässig virulent sind, wie man bisher allgemein angenommen hat. Es kommen ziemlich bedeutende Abstufungen in der Virulenz selbst bei frisch gezüchteten Culturen vor.

Die in den Laboratorien lange Zeit hindurch fortgezüchteten Culturen haben in der Regel an Virulenz sehr verloren. Zur Präparation von TR soll man nur hoch virulente Culturen verwenden. Die wenig virulenten liefern auch wenig wirksame oder selbst ganz unwirksame Präparate.

Die Culturen dürfen nicht zu alt sein, sie müssen so jung wie möglich verarbeitet werden. Das Trocknen darf nur im Vacuum-Exsiccator vorgenommen werden. Andere Manipulationen bringen leicht derartige Veränderungen hervor, dass die Substanz weniger löslich und damit auch weniger wirksam wird. Ueber-

haupt sind alle chemischen Eingriffe, und wenn sie noch so gering sind, zu vermeiden, da das TR sehr empfindlich dagegen zu sein scheint. Aus demselben Grunde sind auch sowohl die zu verarbeitenden Culturen als das fertige Präparat vor Licht zu schützen.

Die Culturen müssen ferner möglichst frisch, also gleich nachdem sie vollkommen trocken geworden sind, verarbeitet werden; denn ein längeres Aufbewahren schädigt sie ebenfalls. Grössere Mengen als etwa 100 mg lassen sich mit der Hand nicht verarbeiten, und es gehört schon grosse Uebung dazu, um dieses Quantum zu bewältigen. Eine ausreichende Trennung von TO und TR ist nur dann erreicht, wenn das vollkommen klare TO mindestens 50 % der festen Substanz aufgenommen hat. Anderenfalls bleibt in TR eine mehr oder weniger grosse Menge vom TO, und man erhält bei der Injection desselben unerwünschte Reactionen.

Wer sich mit der Herstellung des TR befassen will, muss sich dessen bewusst sein, dass hoch virulente lebende Tuberkelbacillen in trockenem Zustande so zu verarbeiten sind, dass eine Staubbildung gar nicht zu vermeiden ist. Die damit verbundene Gefahr halte ich für keine geringe, und ich muss gestehen, dass ich bei diesen Versuchen das Gefühl hatte, als ob ich mit explosiblen Stoffen zu thun hätte. Einen Respirator habe ich nicht benutzt, weil mir derselbe keinen ausreichenden Schutz zu bieten schien. Er kann nicht verhüten, dass sich der Bacillenstaub auf die Kleider legt und im Zimmer verbreitet. Ich halte es deswegen auch für ausgeschlossen, dass das TR etwa in grösseren Mengen mit Handbetrieb hergestellt werden könnte. Ein gleichmässig gutes, allen Anforderungen genügendes Präparat in grösseren Mengen kann unter Vermeidung der bei der Verarbeitung drohenden Gefahren nur der Grossbetrieb mit Zuhülfenahme von geeigneten maschinellen Einrichtungen produciren. Derartige Einrichtungen für den Grossbetrieb zu treffen, haben sich auf meine Veranlassung die Farbwerke von Meister Lucius & Brüning in Höchst a. M. entschlossen, und sie können das Präparat TR sowohl als TO genau nach meinen Angaben hergestellt abgeben.

Die Flüssigkeiten sind behufs Conservirung mit einem Zusatz von 20 % Glycerin versehen, der dieselben nach meinen bisherigen Erfahrungen gegen Zersetzung genügend schützt, ohne das TR in den unlöslichen Zustand überzuführen.

Die Anwendung und Dosirung des Präparates ist eine sehr einfache. Die Injectionen werden ebenso wie beim Tuberkulin auf dem Rücken mit Hülfe einer gut sterilisirbaren Spritze gemacht. Die Flüssigkeit enthält im Cubikcentimeter 10 mg fester Substanz und ist für den Gebrauch durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung (nicht mit Phenollösung) auf die erforderliche Dosis zu bringen. Man beginnt mit $^1/_{500}$ mg. Es ist dies eine so niedrige Dosis, dass darauf nur ausnahmsweise eine Reaction eintritt;

sollte dies aber der Fall sein, dann verdünnt man noch mehr. Die Einspritzungen werden ungefähr jeden zweiten Tag unter so langsamer Steigerung der Dosis vorgenommen, dass höhere Temperatursteigerungen als um einen halben Grad möglichst vermieden werden. Etwaige Temperatursteigerungen, welche durch die Injection bedingt sind, müssen vollkommen geschwunden sein, ehe von neuem injicirt wird. Ich bin in der Regel bis 20 mg gestiegen und habe dann, wenn auf diese Dosis keine Reaction erfolgt, aufgehört oder nur noch in grösseren Pausen injicirt.

Will man Thiere immunisiren, dann giebt man von vornherein soviel, als sie gut resorbiren können, den Meerschweinchen z. B. 2—3 mg, grösseren Thieren entsprechend mehr. Bei tuberkulösen Thieren muss man natürlich mit viel kleineren Dosen anfangen, da eine Dosis von 2 mg unter Umständen schon tödtlich sein kann.

Was nun die mit dem TR zu erzielenden Wirkungen anbetrifft, so will ich mich hier nur auf einige kurze Bemerkungen beschränken und behalte mir vor, später hierüber und namentlich über die Behandlung von Kranken ausführlicher zu berichten.

Bei der Immunisirung gesunder und der Behandlung kranker Thiere kommt alles darauf an, möglichst grosse Dosen beizubringen. Natürlich müssen dieselben so bemessen sein, dass sie noch gut resorbirt werden, was sich leicht an dem Verhalten der Infiltration an den Injectionsstellen bemessen lässt. Unter Einhaltung dieser Bedingungen ist es mir gelungen, eine grössere Anzahl von Meerschweinchen vollkommen zu immunisiren, so dass sie wiederholte Impfungen mit virulenten Culturen ertragen haben, ohne inficirt zu werden. Die Impfstellen verschwanden spurlos, und die der Impfstelle benachbarten Inguinaldrüsen waren noch Monate nach der Impfung in einigen Fällen ganz unverändert, in anderen nur ein wenig vergrössert, aber ohne sichtbare tuberkulöse Veränderungen; Tuberkelbacillen konnten in ihnen nicht aufgefunden werden.

Bei einer Anzahl von Thieren war zur Zeit der ersten Impfung die Immunisirung noch nicht beendet. In diesen Fällen fand sich die Impfstelle zwar verheilt, aber die Inguinaldrüsen waren verkäst. Die inneren Organe dagegen waren frei von Tuberkulose, während die Controllthiere weit vorgeschrittene allgemeine Tuberkulose der Lungen, Milz und Leber zeigten.

Einen noch geringeren Grad von Immunisirung zur Zeit der Impfung glaube ich da annehmen zu müssen, wo bei den Versuchsthieren sich nur die Lungen tuberkulös erkrankt zeigten, während Leber und Milz nur Spuren von Tuberkulose erkennen liessen oder ganz frei davon waren. Diesen Zustand habe ich ausser in diesen Fällen nur noch bei tuberkulösen Meerschweinchen gesehen, welche mit dem gewöhnlichen Tuberkulin behandelt wurden, aber in einem zu weit vorgeschrittenen Stadium der Erkrankung.

Bei Meerschweinchen, welche nach geschehener tuberkulöser Infection Injectionen mit TR erhalten hatten, wurden ausnahmslos mehr oder weniger weit vorgeschrittene regressive Veränderungen an den beim Beginn der Behandlung bereits tuberkulös gewesenen Organen gefunden. Namentlich zeigte sich das an Leber und Milz. In der Leber fehlten die nekrotischen, gelblich gefärbten Heerde, dafür sah man Furchen und Einsenkungen an der Oberfläche, welche dem Organ ein eigenthümlich höckeriges Aussehen verleihen. Die Milz liess ebenfalls Schrumpfungen erkennen, die in einigen Fällen soweit gegangen waren, dass von dem Organ nur noch ganz geringe Reste übrig geblieben waren, die erst nach sorgfältigem Suchen aufgefunden werden konnten.

Im allgemeinen habe ich bei diesen Versuchen den Eindruck gewonnen, dass die volle Immunisirung etwa zwei bis drei Wochen nach der Application grösserer Dosen eintritt. Eine Heilung tuberkulöser Meerschweinchen, bei denen die Krankheit bekanntlich sehr rasch verläuft, gelingt deswegen nur, wenn die Behandlung frühzeitig, schon ein bis zwei Wochen nach der Impfung eingeleitet wird.

Letztere Regel gilt auch für den tuberkulösen Menschen, dessen Behandlung man nicht zu spät beginnen soll. Im Anfang werden so kleine Dosen gegeben, dass von ihnen noch keine nennenswerthe Immunisirung zu erwarten ist; erst wenn man zu grösseren Dosen gelangt ist, 0,5—1 mg, treten unverkennbare Wirkungen der Immunisirung ein. Damit ist auch von vornherein eine Grenze für die Anwendbarkeit des Präparats gegeben. Ein Kranker, dessen Zustand nur noch wenige Monate Lebensfrist gestattet, hat keinen Nutzen davon zu erwarten. Ebenso wenig hat es einen Zweck, Kranke damit behandeln zu wollen, welche an secundären Infectionen, namentlich durch Streptococcen bedingten leiden und bei denen septische Processe die Tuberkulose ganz in den Hintergrund gedrängt haben. Es ist doch selbstverständlich, dass eine Immunisirung gegen Tuberkulose auf Streptococcen und andere pathogene Mikroorganismen, welche bei vorgeschrittener Tuberkulose oft eine so verhängnissvolle Rolle spielen, keinen Einfluss, wenigstens keinen unmittelbaren ausüben kann. Derartige Zustände sind in der Regel schon an dem Verhalten der Temperatur zu erkennen, und in dieser Beziehung hat die Erfahrung gelehrt, dass Kranke, deren Temperatur über 38^0 hinausgeht, für die specifische Behandlung der Tuberkulose nur noch ausnahmsweise zugänglich sind.

Das Präparat ist von mir bei einer ziemlich grossen Zahl geeigneter Kranken, und namentlich auch bei Lupuskranken angewendet, und ich habe bei denselben ausnahmslos eine bedeutende Besserung erreicht, welche viel weiter geht, als die mit dem gewöhnlichen Tuberkulin und mit TA erzielten Erfolge. Ich rede absichtlich nur von „Besserung“, obwohl nach gewöhnlichen Begriffen nicht wenige Fälle als geheilt bezeichnet werden konnten. Aber ich halte es für verfrüht, den Ausdruck Heilung zu ge-

brauchen, bevor nicht ein hinreichend langer Zeitraum ohne Recidiv verstrichen ist.

Bei Lupuskranken war es besonders bemerkenswerth, dass die örtlichen Reactionen sehr gering blieben und trotzdem eine beständig fortlaufende Besserung sich vollzog. Ebenso fehlten bei Phthisikern die vom Tuberkulin her bekannten stürmischen Reactionen, die vorübergehende Infiltration in den erkrankten Lungenpartieen zur Folge hatten. Beim TR war eine geringe Zunahme der Rasselgeräusche in der Regel das einzige örtliche Symptom, welches bald wieder verschwand. Schon nach wenigen Injectionen nahm die Menge des Sputums ab, und oft versiegte es schliesslich ganz, womit natürlich auch der Befund von Tuberkelbacillen aufhörte. Dementsprechend schwanden die Rasselgeräusche über den erkrankten Lungenpartieen, und das Dämpfungsgebiet verkleinerte sich.

Irgend welche beängstigenden Nebensymptome oder eine sonstige Beeinträchtigung der Gesundheit, welche dem Präparat zugeschrieben werden könnte, habe ich in keinem Falle gesehen. Fast alle Kranken nahmen von Anfang an im Gewichte zu und erreichten bis zum Schluss der Behandlung ganz erhebliche Gewichtszunahmen. Besonders in die Augen fallend war auch die Veränderung der Temperaturcurve bei solchen Kranken, welche die bekannten täglichen Temperaturschwankungen um einen Grad und darüber hatten. Die zackige Linie glich sich mehr und mehr aus und ging allmählich zur normalen, fast gestreckten und dicht unterhalb von 37^0 verlaufenden Linie über.

Ob die von mir bisher geübte Methode in der Anwendung des TR, nämlich langsames Ansteigen von subcutan beigebrachten kleinsten Dosen bis etwa auf 20 mg, die beste ist, wage ich nicht zu behaupten. Es ist möglich, dass andere Methoden, vielleicht auch Combinationen mit dem TO oder mit Serumpräparaten, die vermittels TO oder TR[1]) gewonnen sind, besser und schneller zum Ziele führen, das müssen eben weitere Versuche lehren. Aber das glaube ich mit Bestimmtheit behaupten zu können, dass weitere Verbesserungen der Präparate selbst nicht mehr zu erwarten sind. Dieselben bestehen aus hochvirulenten, frischen Culturen, welche unmittelbar vorher noch lebend waren und ohne chemische Eingriffe in den löslichen Zustand übergeführt sind.

Etwas Besseres lässt sich in dieser Art nicht darstellen, und was überhaupt mit Tuberkelculturen zu erreichen ist, das muss mit diesen Präparaten zu erreichen sein.

Berlin, den 14. November 1896.

---

[1]) Versuche zur Serumgewinnung mit den Präparaten TO und TR sind bereits im Gange.

Gedruckt bei Julius Sittenfeld in Berlin W.